

浓缩橙汁贮藏过程中非酶褐变的研究

赵迪青¹, 张 慇^{*1}, 刘亚萍²

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 广东嘉豪食品股份有限公司, 广东 中山 528400)

摘要: 研究了浓缩橙汁在不同贮藏条件下与非酶褐变有关的主要物质的变化及其与褐变的关系。通过相关性分析和通路分析, 探求引起浓缩橙汁褐变的主要原因。实验表明, 抗坏血酸的氧化降解, 类胡萝卜素的降解, 酚类物质的氧化缩合是引起褐变的主要因素, 美拉德反应对褐变的影响较小。

关键词: 浓缩橙汁; 非酶褐变; 相关性分析; 通路分析; 原因

中图分类号: TS 255.44 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2018)05—0517—10

Research on Non-Enzymatic Browning of Orange Juice Concentrate During Storage

ZHAO Diqing¹, ZHANG Min^{*1}, LIU Yaping²

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University Jiangsu, Wuxi 214122, China; 2. Guangdong Jiahao Foodstuff Co., Ltd, Zhongshan 528400, China)

Abstract: The changes of main substances causing non-enzymatic browning of orange juice concentrate under various storage conditions and their relations with browning were studied. The main reasons of browning in orange juice concentrate were searched by correlation analysis and path analysis. The results showed that ascorbic acid degradation, carotenoids degradation and multi-hydroxybenzene oxidative condensation were the major factors leading to browning, the effect of Maillard reaction on browning was slight.

Keywords: orange juice concentrate, non-enzymatic browning, correlation analysis, path analysis, reason

橙汁因其色泽悦目, 可口香甜, 香气怡人, 含有丰富的营养物质, 成为世界最流行、销售量最大的果汁产品^[1]。橙汁饮料是指把水、糖、酸味剂等配料加入未经浓缩或者浓缩后的橙汁后清汁或混汁制品。但是橙汁在加工和贮藏的过程中, 颜色会发生不好的变化, 比如变深、变暗, 这种现象成为褐变^[2],

即橙汁的色泽稳定性遭到了破坏, 橙汁的外观会受到影响, 口感和风味也会变差, 同时营养价值也会降低, 甚至导致食品的变质^[3]。褐变分为 2 种类型: 酶促褐变和非酶促褐变^[4]。产品含有的多酚氧化酶基本会在灭菌过程中被钝化, 酶促褐变基本可以忽略不计^[5], 但是很多因素会导致非酶褐变, 反应体系

收稿日期: 2016-02-29

基金项目: 广东省-教育部产学研结合项目(2012B091000125)。

* 通信作者: 张 慇(1962—), 男, 浙江平湖人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事生鲜食品加工、贮藏保鲜机理和工程研究。

E-mail: min@jiangnan.edu.cn

引用本文: 赵迪青, 张慇, 刘亚萍. 浓缩橙汁贮藏过程中非酶褐变的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(05): 517-526.

很复杂,在饮料的加工和贮藏过程中较常见,成为了很多果汁品质下降、贮藏期短的主要原因^[6]。非酶促褐变主要包括维生素 C 的降解反应、焦糖化反应、美拉德(Maillard)反应和酚类化合物的氧化缩合反应^[7-8],胡萝卜素作为橙汁中主要的色素,它的降解也可以归为非酶褐变^[9-10]。

学术上对浓缩橙汁贮藏期的褐变的研究仍然比较欠缺,此次实验作者将研究浓缩橙汁贮藏期的颜色变化,探索变化原因,采用通径分析的数学方法分析了浓缩橙汁主场期间非酶褐变的结果与多个因素之间的关系。通径分析是用于分析多个自变量与因变量之间关系,研究各自变量对因变量的影响程度,理清各因素间相互关系的数学分析方法^[11-12]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

浓缩橙汁:广东嘉豪食品有限公司产品;FE20 pH 计:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品;APV-1000 实验型高压均质机:APV 公司产品;WAY-2W 阿贝折光仪:上海精密科学仪器有限公司产品;BPX 系列电热恒温培养箱:上海博迅实业有限公司医疗设备厂制造;UltraScan Pro1166 高精度分光测色仪:美国 Hunterlab 公司产品;(UV-2600)紫外分光光度计:上海天美科学仪器有限公司产品;HH-S 型水浴锅:郑州长城科技工贸有限公司产品;PL203 型电子分析天平:梅特勒-托利多仪器公司产品;海尔冰王子冰柜:青海海尔股份有限公司产品。

95%乙醇、没食子酸、无水碳酸钠、无水乙醇、福林酚、氢氧化钠、盐酸、亚铁氰化钾、乙酸锌、亚硫酸氢钠、草酸、2,6-二氯酚、维生素 C、丙酮、二甲亚砜、30%过氧化氢、甲醛溶液、葡萄糖、3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钾钠、结晶酚、亚硫酸钠,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 浓缩橙浆原料→热封→贮藏

1.2.2 操作要点

1) 热封:真空包装袋是用 PA 复合 CPP 制作的能耐 121 ℃的蒸煮袋,尺寸为 13 cm×10 cm,经真空包装机抽真空 12 s,中温封口 2.5 s。

2) 贮藏:将浓缩橙浆分别在 4、25、37 ℃下贮藏 50 d,每隔 10 d 测定一次指标。

1.3 测定方法

1.3.1 色泽的测定 采用高精度分光测色仪定量测定浓缩橙汁各温度下贮藏期间的颜色。以标准白板为标准,在比色皿内量取适量的橙汁样品,先用白板校准色差计,然后在同样的光源下测量样品,读取 L^* , a^* , b^* , 每个样品测定 5 次,取平均值。其中 L^* 为白度, a^* 为色泽红/绿, b^* 值为色泽黄/蓝,同时计算 ΔE^* 的值。公式为

$$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

总色差 ΔE^* 能够反映贮藏开始时与贮藏后浓缩橙汁色泽变化的差异。色泽差异越明显, ΔE^* 值越大。Francis 等曾用 ΔE^* 等于 2 作为肉眼分辨的临界点。当 ΔE^* 值小于 2 时,其色泽变化肉眼无法感知,说明贮藏期间橙浆的没有发生明显的色泽变化,与初始时的颜色基本一致,仍可流通销售。但当 ΔE^* 超过 2 时,肉眼能够明显感觉颜色的差异,表明浓缩橙汁的色泽在贮藏过程中发生了显著的变化^[13]。

1.3.2 褐变指数的测定 0.3 g 浓缩橙汁加 1 mL 水溶解,接着用体积分数 95%的乙醇处理 60 min,然后用冷冻离心机在 3 000 g、10 ℃的条件下离心,保留上清液,残渣继续用乙醇处理,重复上述操作 3 次,最后搜集上清液并定容到 25 mL。在 420 nm 处用紫外分光光度计测量吸光值,结果表示为吸收单位 A_{420}/g 浓缩橙汁^[14]。

1.3.3 抗坏血酸质量分数的测定 采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法^[15]。

1.3.4 总酚质量分数的测定 福林酚法^[16]。

1) 标准液配制:取没食子酸标准品 10 mg 溶解到 100 mL 去离子水中制得。分别准确量取标准液 0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 于 10 mL 离心管中,加入 5 mL 去离子水,再分别依次加入 0.5 mL 福林酚显色剂和 10% Na_2CO_3 溶液 2 mL,定容至刻度。在 75 ℃条件下水浴 10 min,在 760 nm 波长下测定吸光度 A 。所得标准曲线方程为

$$y = 8.957x - 0.0018, R^2 = 0.9994 \quad (2)$$

2) 取 0.25 g 浓缩橙汁样品,用去离子水溶解并定容至 100 mL,量取 1 mL 样液于 10 mL 离心管中,加入 5 mL 去离子水,0.5 mL 福林酚显色剂和 10% Na_2CO_3 溶液 2 mL,定容至刻度。在 75 ℃条件下水浴 10 min,在 760 nm 波长下测定吸光度 A ,换算成质量分数,单位为 mg/g。

1.3.5 氨基酸态氮质量分数的测定 GB/T12143-2008^[17]。

1.3.6 还原糖质量分数的测定 3,5-二硝基水杨酸法^[18]。

1)葡萄糖标曲的测定:取7支具有25 mL刻度的比色管,按下列方法添加各试剂(单位 mL)。1 mg/L葡萄糖标准液:0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2;蒸馏水:2.0,1.8,1.6,1.4,1.2,1.0,0.8;3,5-二硝基水杨酸:各加1.5 mL。添加完毕后,将比色管充分振荡,在100 ℃水浴条件下保持300 s后,移进玻璃容器中,等温度降到室温,再用蒸馏水定容至25 mL刻度处,塞住瓶塞,上下来回振荡,在540 nm波长下测吸光度值,得到标准曲线为

$$y=0.521\ 4x-0.001\ 7, R^2=0.999\ 8 \quad (3)$$

2)取0.225 g浓缩橙汁,用蒸馏水定容至100 mL的容量瓶中,取出0.5 mL样品于25 mL比色管中,加入1.5 mL蒸馏水,再加入1.5 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂,振荡,100 ℃水浴保持5 min,取出后放入玻璃容器中,待温度下降至室温,再用蒸馏水定容至25 mL刻度处,塞住瓶塞,来回振荡,在540 nm波长下测吸光度值。

1.3.7 类胡萝卜素质量分数的测定 类胡萝卜素的测定参照Martín-Diana等^[19]的方法。2 g浓缩橙汁样品加5 mL水溶解,用含体积分数10%二甲亚砜的丙酮溶液15 mL冰水浴处理。所有操作都应避光,因为类胡萝卜素对光、热和空气非常敏感。混合液4 ℃,3 000 g离心30 min取上清液,残渣继续用上述溶液洗涤,使得残渣变为白色,然后用容量瓶定容到50 mL。用紫外分光光度计在450 nm处测定吸光值,以溶剂作为空白,每个样品测3次。类胡萝卜素质量分数计算如下:

$$M=\frac{Abs}{250} \times \frac{50\ mL}{W_0} \times 100\ mg/kg \quad (4)$$

其中, M 为类胡萝卜素质量分数; W_0 为样品质量。

1.3.8 数据分析 以上指标测量均重复三次,统一采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析,相关性分析采用Pearson法双侧检验。

2 结果与分析

2.1 褐变指数 A_{420} 和色差值与各主要致褐变因子的相关分析

相关性分析结果表明,在3种不同的贮藏温度

下,抗坏血酸与褐变指数和 ΔE^* 呈显著或极显著负相关,浓缩橙汁中抗坏血酸含量减少,褐变程度加剧,说明抗坏血酸的氧化降解是导致果汁褐变的可能原因,见表1。总酚与褐变指数和 ΔE^* 呈显著或极显著负相关,浓缩橙汁中总酚质量分数减少,褐变程度加剧,说明酚类物质的氧化缩合可能导致浓缩橙汁褐变产生。氨基酸态氮与褐变指数和 ΔE^* 呈极显著负相关,浓缩橙汁中氨基酸态氮含量减少,褐变程度加剧,而氨基酸态氮除作为美拉德反应的反应物之一,参与美拉德反应外,还能与氧化了的VC发生美拉德反应,另外也能与多元酚结合,导致氨基酸态氮含量的减少,从而加速褐变反应^[20]。由类胡萝卜素的数据表明,其与 A_{420} 和 ΔE^* 均呈负相关关系且相关性较强,说明果汁褐变也可能是类胡萝卜素的降解引起的。还原糖与褐变指数和 ΔE^* 的相关性不是很强,说明美拉德反应可能并不是引起浓缩橙汁褐变的主要原因。

表1 贮藏过程中褐变指数和色差与各主要致褐变因子的相关系数

Table 1 Correlation coefficients between browning index, chroma difference and several factors causing browning during storage

各因子间相关性	不同贮藏温度下相关性系数及显著性		
	4 ℃	25 ℃	37 ℃
A_{420} 与抗坏血酸	$R=-0.942^{**}$	$R=-0.994^{**}$	$R=-0.91^{*}$
	$P=0.005$	$P=0.000\ 06$	$P=0.012$
A_{420} 与还原糖	$R=0.553$	$R=0.758$	$R=0.833^{*}$
	$P=0.255$	$P=0.081$	$P=0.04$
A_{420} 与总酚	$R=-0.914^{*}$	$R=-0.968^{**}$	$R=-0.884^{*}$
	$P=0.011$	$P=0.002$	$P=0.02$
A_{420} 与氨基酸态氮	$R=-0.983^{**}$	$R=-0.996^{**}$	$R=-0.944^{**}$
	$P=0.000\ 4$	$P=0.000\ 03$	$P=0.005$
A_{420} 与类胡萝卜素	$R=-0.941^{**}$	$R=-0.97^{**}$	$R=-0.979^{**}$
	$P=0.005$	$P=0.001$	$P=0.001$
ΔE^* 与抗坏血酸	$R=-0.946^{**}$	$R=-0.98^{**}$	$R=-0.957^{**}$
	$P=0.004$	$P=0.001$	$P=0.003$
ΔE^* 与还原糖	$R=0.369$	$R=0.681$	$R=0.897^{*}$
	$P=0.472$	$P=0.136$	$P=0.015$
ΔE^* 与总酚	$R=-0.958^{**}$	$R=-0.982^{**}$	$R=-0.952^{**}$
	$P=0.003$	$P=0.000\ 5$	$P=0.003$
ΔE^* 与氨基酸态氮	$R=-0.969^{**}$	$R=-0.99^{**}$	$R=-0.982^{**}$
	$P=0.001$	$P=0.000\ 2$	$P=0.0005$
ΔE^* 与类胡萝卜素	$R=-0.987^{**}$	$R=-0.992^{**}$	$R=-0.974^{**}$
	$P=0.000\ 3$	$P=0.000\ 09$	$P=0.001$

2.2 各温度下各致褐变因子和色差 ΔE^* 与褐变指数 A_{420} 的变化

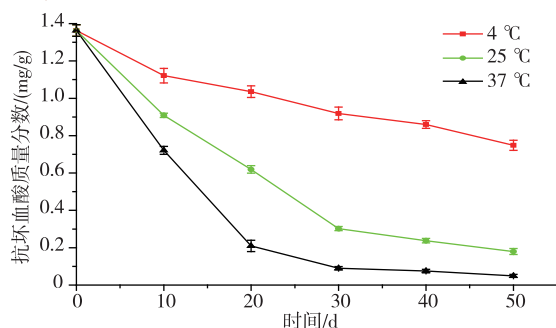


图 1 抗坏血酸在贮藏期间的变化

Fig. 1 Changes of ascorbic acid during storage

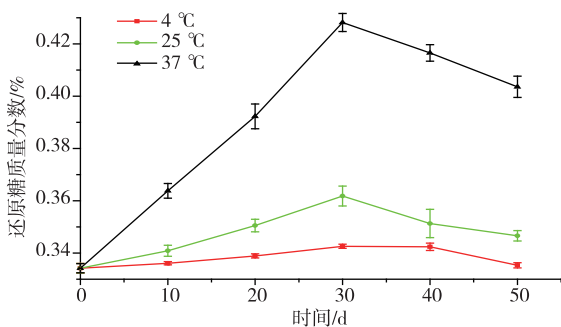


图 2 还原糖在贮藏期间的变化

Fig. 2 Changes of reducing sugar during storage

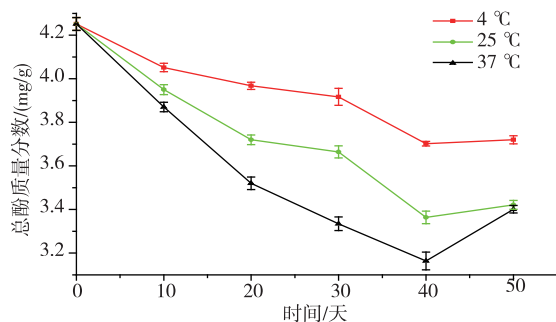


图 3 总酚在贮藏期间的变化

Fig. 3 Changes of phenols during storage

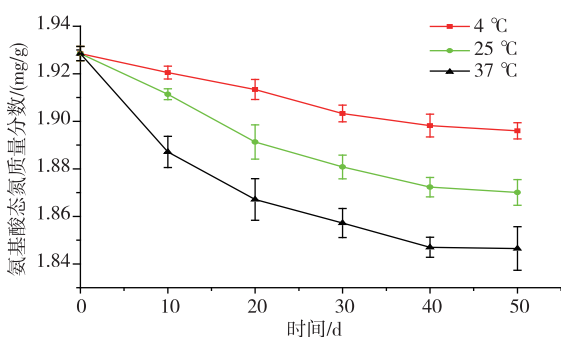


图 4 氨基酸态氮在贮藏期间的变化

Fig. 4 Changes of amino acid nitrogen during storage

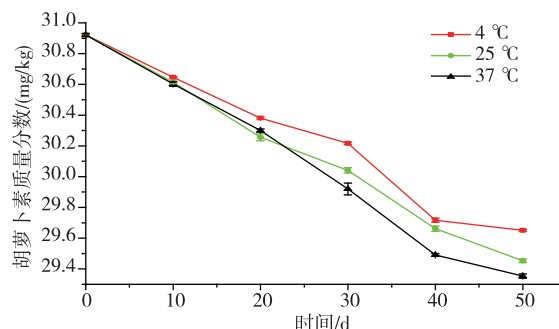


图 5 类胡萝卜素在贮藏期间的变化

Fig. 5 Changes of carotenoids during storage

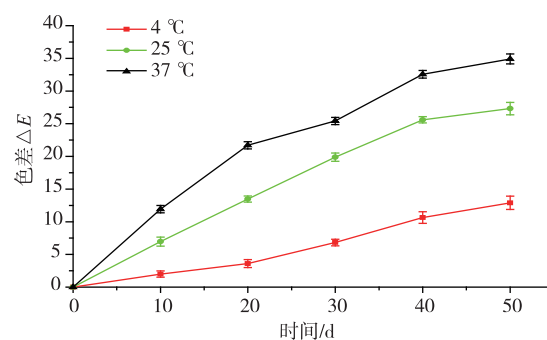


图 6 色差在贮藏期间的变化

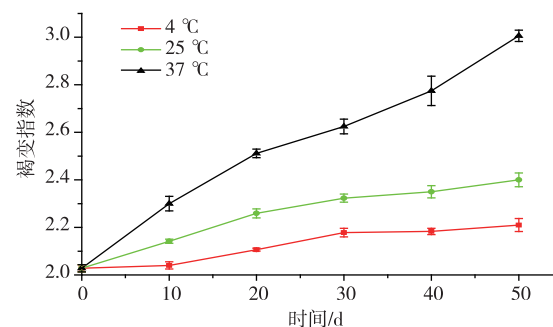
Fig. 6 Changes of ΔE^* during storage

图 7 褐变指数在贮藏期间的变化

Fig. 7 Changes of A_{420} during storage

2.3 4 °C 贮藏条件下浓缩橙汁非酶褐变的途径分析

2.3.1 途径分析—各因素对色差 ΔE^* 值的影响

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 和 Y_1 间的相关系数见表 2。

表 2 各因子间的相关系数

Table 2 Correlation coefficient of all factors

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_1
X_1	1	-0.48	0.966	0.978	0.956	-0.946
X_2	-0.48	1	-0.51	-0.559	-0.446	0.369
X_3	0.966	-0.51	1	0.969	0.988	-0.958
X_4	0.978	-0.559	0.969	1	0.975	-0.969
X_5	0.956	-0.446	0.988	0.975	1	-0.987

各因子对结果的相对影响程度用通径系数表示。上表所示 5 个因子对色差 ΔE^* 值(Y_2)的影响程度分别用通径系数 P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 表示。求解式(5)得各通径系数:

$$\begin{bmatrix} 1 & r_{12} & r_{13} & r_{14} & r_{15} \\ r_{21} & 1 & r_{23} & r_{24} & r_{25} \\ r_{31} & r_{32} & 1 & r_{34} & r_{35} \\ r_{41} & r_{42} & r_{43} & 1 & r_{45} \\ r_{51} & r_{52} & r_{53} & r_{54} & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P_1 \\ P_2 \\ P_3 \\ P_4 \\ P_5 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_3 \\ r_4 \\ r_5 \end{bmatrix} \quad (5)$$

表 2 中相关系数代入式(5)得到式(6)

$$\begin{bmatrix} 1 & -0.48 & 0.966 & 0.978 & 0.956 \\ -0.48 & 1 & -0.51 & -0.559 & -0.446 \\ 0.966 & -0.51 & 1 & 0.969 & 0.988 \\ 0.978 & -0.559 & 0.969 & 1 & 0.975 \\ 0.956 & -0.446 & 0.988 & 0.975 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P_1 \\ P_2 \\ P_3 \\ P_4 \\ P_5 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.946 \\ 0.369 \\ -0.958 \\ -0.969 \\ -0.987 \end{bmatrix} \quad (6)$$

求解方程(6)即得各因素对色差的直接通径系数,抗坏血酸 $P_1=0.164\ 6$,还原糖 $P_2=-0.150\ 7$,总酚 $P_3=0.373\ 8$,氨基酸态氮 $P_4=-0.672$,类胡萝卜素 $P_5=-0.927\ 6$,表明了各因素独立作用时对结果的影响程度。间接通径系数是某一因素 X_i 通过另一因素 $X_j(i \neq j)$ 对结果的影响。由式(7)求出:

$$P_{ij}=r_{ij}P_j \quad (7)$$

表 3 为通径系数分析表,其中带 * 的数据为直接通径系数(P_i),其余的为间接通径系数。相关系数 R_i 表明因子对结果的影响程度,大小为该因子所在行的各数据和。

表 3 通径分析表

Table 3 Table of path analysis

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	R_i
X_1	0.164 6*	0.072 3	0.361 1	-0.657 2	-0.886 8	-0.946
X_2	-0.079 0	-0.150 7*	-0.190 6	0.375 6	0.413 7	0.369
X_3	0.159 0	0.076 9	0.373 8*	-0.651 1	-0.916 5	-0.958
X_4	0.160 9	0.084 3	0.362 2	-0.672 0*	-0.904 4	-0.969
X_5	0.157 3	0.067 2	0.369 3	-0.655 2	-0.927 6*	-0.987

表 3 表明,4 ℃贮藏条件下类胡萝卜素 (X_5)对浓缩橙汁的色差值作用最大, $P_5=-0.927\ 6$;氨基酸态氮 (X_4) 次之, $P_4=-0.672$;作用最小的是还原糖 (X_2), $P_2=-0.150\ 7$ 。分析表 3 数据可得,类胡萝卜素与氨基酸态氮、总酚、抗坏血酸的复合影响对色差值的影响也非常显著;还原糖与其他因素的复合影响甚微。

决定系数表示因子对结果的影响程度(用 d 表示),大小可通过相关系数和通径系数由公式(8)、(9)计算得到:

$$\text{单因子对 } Y \text{ 的决定系数: } d_i=P_i^2 \quad (8)$$

$$\text{两因子对 } Y \text{ 的决定系数: } d_{ij}=2r_{ij}P_iP_j \quad (9)$$

各决定系数为:

$$d_1=0.027\ 1, d_2=0.022\ 7, d_3=0.139\ 7, d_4=0.451\ 6, d_5=0.860\ 5$$

$$d_{12}=0.023\ 8, d_{13}=0.118\ 8, d_{14}=-0.216\ 3, d_{15}=-0.291\ 9$$

$$d_{23}=0.057\ 5, d_{24}=-0.113\ 2, d_{25}=-0.124\ 7$$

$$d_{34}=-0.486\ 8, d_{35}=-0.685\ 2$$

$$d_{45}=1.215\ 5, \sum d=0.999\ 1$$

$$Pe=\sqrt{1-0.999\ 1}=0.03$$

分析 4 ℃贮藏条件下浓缩橙汁各致褐变因子对色差的决定系数,排名前 3 位的是: $d_5>d_3>d_{35}$ 。氨基酸态氮和类胡萝卜素的复合影响对色差值的影响最大;类胡萝卜素次之;总酚和类胡萝卜素的复合影响处在第 3 位;其余依此类推。

通过 $\sum d$ 来判别因变量的通径分析模型设置的自变量是否合理。 $\sum d$ 越接近于 1,表示该通径分析的结果越符合实际情况;若 $\sum d$ 越远离 1 表示该通径分析的结果越不符合实际或无意义。而由于实验很难考虑到所有的影响因素及不可避免误差,所以 $\sum d$ 也不可能达到 1, Pe 为剩余因素(未考虑的因变量的影响因素和试验误差)。此次实验中, $\sum d=0.999\ 1, Pe=0.03$ 说明已考虑了影响橙汁色差值变化的主要因素。

2.3.2 通径分析—各因素对褐变指数 A_{420} 值的影响

$X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, Y_2$ 变量间的相关系数见表 4。

表 4 各因子间的相关系数

Table 4 Correlation coefficient of all factors

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_2
X_1	1	-0.48	0.966	0.978	0.956	-0.942
X_2	-0.48	1	-0.51	-0.559	-0.446	0.553
X_3	0.966	-0.51	1	0.969	0.988	-0.914
X_4	0.978	-0.559	0.969	1	0.975	-0.983
X_5	0.956	-0.446	0.988	0.975	1	-0.941

通径系数由相关系数计算得到,各因素对褐变指数 $A_{420}(Y_2)$ 的直接通径系数为:

$$P_1=-0.325\ 7, P_2=0.137\ 1, P_3=1.488\ 8, P_4=-0.886\ 2, P_5=-1.173\ 6$$

即为抗坏血酸、还原糖、总酚、氨基酸态氮、类胡萝卜素对褐变指数 $A_{420}(Y_2)$ 的直接通路系数。间接通路系数 P_{ij} 由直接通路系数计算得到, 见通路系数分析表 5。(计算步骤同 2.3.1)

表 5 通路分析表

Table 5 Table of path analysis

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	R_2
X_1	-0.325 7*	-0.065 8	1.438 2	-0.866 8	-1.122	-0.942
X_2	0.156 3	0.137 1*	-0.759 3	0.495 4	0.523 4	0.553
X_3	-0.314 6	-0.069 9	1.488 8*	-0.858 8	-1.159 5	-0.914
X_4	-0.318 5	-0.076 7	1.442 7	-0.886 3*	-1.144 3	-0.983
X_5	-0.311 3	-0.061 2	1.471	-0.864 1	-1.173 6*	-0.941

表 5 表明, 在被研究的 5 个因子中, 4℃ 贮藏条件下总酚 (X_3) 对浓缩橙汁的褐变指数影响最大, $P_3=-1.488 8$; 类胡萝卜素 (X_5) 次之, $P_5=-1.173 6$; 作用最小为还原糖 (X_2), $P_2=0.137 1$ 。从表 5 中还可以看出, 总酚与氨基酸态氮、类胡萝卜素、抗坏血酸的复合影响对褐变指数的影响也特别突出; 还原糖与其他因素的复合影响甚微。

计算得各决定系数为(方法同 2.3.1):

$d_1=0.106 1, d_2=0.018 8, d_3=2.216 7, d_4=0.785 5, d_5=1.377 4$

$d_{12}=0.042 9, d_{13}=-0.936 7, d_{14}=-0.564 5, d_{15}=0.730 8$

$d_{23}=-0.208 3, d_{24}=0.135 9, d_{25}=0.143 6$

$d_{34}=-2.557 3, d_{35}=-3.452 8$

$d_{45}=2.028 3$

$\sum d=0.995 3$

由决定系数可以看出 4℃ 贮藏条件下浓缩橙汁各致褐变因子对褐变指数的决定系数中, 排名前 3 位的是: $d_{35}>d_{34}>d_3$ 。总酚和类胡萝卜素的复合影响对褐变指数的影响最大; 总酚和氨基酸态氮的复合影响次之; 总酚的影响处在第 3 位; 其余依此类推。

此次实验中, $\sum d=0.995 3, P_e=0.068 6$ 说明已考虑了影响橙汁褐变指数变化的主要因素。

2.4 25℃贮藏条件下浓缩橙汁非酶褐变的通路分析

2.4.1 通路分析—各因素对色差 ΔE^* 值的影响

$X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, Y_1$ 变量间的相关系数见表 6。

表 6 各因子间的相关系数

Table 6 Correlation coefficient of all factors

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_1
X_1	1	-0.791	0.969	0.993	0.956	-0.98
X_2	-0.791	1	-0.664	-0.755	-0.597	0.681
X_3	0.969	-0.664	1	0.983	0.974	-0.982
X_4	0.993	-0.755	0.983	1	0.974	-0.99
X_5	0.956	-0.597	0.974	0.974	1	-0.992

通过表中相关系数计算通路系数, 得各因子对色差 ΔE^* 值 Y_1 的直接通路系数 $P_1=-0.211 6, P_2=0.017 4, P_3=-0.074 1, P_4=-0.152 8, P_5=-0.555 6$ 即为抗坏血酸、还原糖、总酚、氨基酸态氮、类胡萝卜素对色差 ΔE^* 值 (Y_1) 的直接通路系数。间接通路系数 P_{ij} 由直接通路系数计算得到, 见通路系数分析表 7 (计算步骤同 2.3.1)

表 7 通路分析表

Table 7 Table of path analysis

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	R_1
X_1	-0.211 6*	-0.013 8	-0.071 8	-0.151 7	-0.531 2	-0.98
X_2	0.167 3	0.017 4*	0.049 2	0.115 4	0.331 7	0.681
X_3	-0.205	-0.011 6	-0.074 1*	-0.150 2	-0.541 2	-0.982
X_4	-0.210 1	-0.013 1	-0.072 8	-0.152 8*	-0.541 2	-0.99
X_5	-0.202 2	-0.010 4	-0.072 1	-0.14 8	-0.555 6*	-0.992

表 7 表明, 在被研究的 5 个因子中, 25℃ 贮藏条件下类胡萝卜素 (X_5) 对浓缩橙汁的色差 ΔE^* 值影响最大, $P_5=-0.555 6$; 抗坏血酸 (X_1) 次之, $P_1=-0.211 6$; 作用最小为还原糖 (X_2), $P_2=0.017 4$ 。此外分析表 7 可得, 类胡萝卜素与氨基酸态氮、总酚、抗坏血酸的复合影响对色差 ΔE^* 值的影响也特别突出; 还原糖与其他因素的复合影响则效果甚微。

计算得各决定系数为(方法同 2.3.1):

$d_1=0.044 8, d_2=0.000 3, d_3=0.005 5, d_4=0.023 3, d_5=0.308 7$

$d_{12}=0.005 8, d_{13}=0.030 4, d_{14}=0.064 1, d_{15}=0.224 7$

$d_{23}=0.001 7, d_{24}=0.004, d_{25}=0.011 6$

$d_{34}=0.022 3, d_{35}=0.080 2$

$d_{45}=0.165 4$

$\sum d=0.992 8$

由决定系数可以看出 25℃ 贮藏条件下浓缩橙汁各致褐变因子对色差 ΔE^* 的决定系数中, 排名前 3 位的是: $d_5>d_{15}>d_{45}$ 。类胡萝卜素对色差 ΔE^* 值的影

响最大;类胡萝卜素和抗坏血酸的复合影响次之;类胡萝卜素和氨基酸态氮的复合影响处在第3位;其余依此类推。

此次实验中, $\sum d=0.992\ 8$, $Pe=0.084\ 9$ 说明已考虑了影响橙汁色差 ΔE^* 值变化的主要因素。

2.4.2 通径分析—各因素对褐变指数 A_{420} 值的影响

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 Y_2 变量间的相关系数见表8。

表8 各因子间的相关系数

Table 8 Correlation coefficient of all factors

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_2
X_1	1	-0.791	0.969	0.993	0.956	-0.994
X_2	-0.791	1	-0.664	-0.755	-0.597	0.758
X_3	0.969	-0.664	1	0.983	0.974	-0.968
X_4	0.993	-0.755	0.983	1	0.974	-0.996
X_5	0.956	-0.597	0.974	0.974	1	-0.97

通径系数由相关系数计算得到,得各因子对褐变指数 Y_2 的直接通径系数 $P_1=-0.407\ 2$, $P_2=-0.026\ 3$, $P_3=0.417\ 2$, $P_4=-0.795\ 7$, $P_5=-0.232$ 即为抗坏血酸、还原糖、总酚、氨基酸态氮、胡萝卜素对褐变指数 $A_{420}(Y_2)$ 的直接通径系数。间接通径系数 P_{ij} 由直接通径系数计算得到,见通径系数分析表9(计算步骤同2.3.1)。

表9 通径分析表

Table 9 Table of path analysis

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	R_2
X_1	-0.407 2*	0.020 8	0.404 3	-0.790 1	-0.221 8	-0.994
X_2	0.322 1	-0.026 3*	-0.277 0	0.600 7	0.138 5	0.758
X_3	-0.394 6	0.017 5	0.417 2*	-0.782 1	-0.225 9	-0.968
X_4	-0.404 4	0.019 9	0.410 1	-0.795 7*	-0.225 9	-0.996
X_5	-0.389 3	0.015 7	0.406 4	-0.775 0	-0.232 0*	-0.970

表9表明,在被研究的5个因子中,25℃贮藏条件下氨基酸态氮(X_4)对浓缩橙汁的褐变指数影响最大, $P_4=-0.795\ 7$;总酚(X_3)次之, $P_3=0.417\ 2$;作用最小为还原糖(X_2), $P_2=-0.026\ 3$ 。从表9中还可以看出,氨基酸态氮与总酚、类胡萝卜素、抗坏血酸的复合影响对褐变指数的影响也特别突出;还原糖与其他因素的复合影响甚微。

计算得各决定系数为(同2.3.1):

$d_1=0.165\ 8$, $d_2=0.000\ 7$, $d_3=0.174\ 1$, $d_4=0.633\ 1$, $d_5=0.053\ 8$

$d_{12}=-0.016\ 9$, $d_{13}=-0.329\ 3$, $d_{14}=0.643\ 5$, $d_{15}=0.1806$

$d_{23}=0.014\ 6$, $d_{24}=-0.031\ 6$, $d_{25}=-0.007\ 3$

$d_{34}=-0.652\ 7$, $d_{35}=-0.188\ 5$

$d_{45}=0.359\ 6$

$\sum d=0.999\ 4$

由决定系数可以看出25℃贮藏条件下浓缩橙汁各致褐变因子对褐变指数的决定系数中,排名前3位的是: $d_{34}>d_{14}>d_4$ 。总酚和氨基酸态氮的复合影响对褐变指数的影响最大;抗坏血酸和氨基酸态氮的复合影响次之;氨基酸态氮的影响处在第3位;其余依此类推。

此次实验中, $\sum d=0.999\ 4$, $Pe=0.024\ 5$ 说明已考虑了影响橙汁褐变指数变化的主要因素。

2.5 37℃贮藏条件下浓缩橙汁非酶褐变的通径分析

2.5.1 通径分析—各因素对色差 ΔE^* 值的影响

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 Y_1 变量间的相关系数见表10。

表10 各因子间的相关系数

Table 10 Correlation coefficient of all factors

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_1
X_1	1	-0.949	0.969	0.988	0.874	-0.957
X_2	-0.949	1	-0.968	-0.932	-0.842	0.897
X_3	0.969	-0.968	1	0.972	0.897	-0.952
X_4	0.988	-0.932	0.972	1	0.922	-0.982
X_5	0.874	-0.842	0.897	0.922	1	-0.974

通过表中相关系数计算通径系数,得各因子对色差 ΔE^* 值 Y_1 的直接通径系数 $P_1=-0.510\ 1$, $P_2=-0.245\ 2$, $P_3=-0.142\ 5$, $P_4=-0.076$, $P_5=-0.533\ 6$ 即为抗坏血酸、还原糖、总酚、氨基酸态氮、类胡萝卜素对色差 ΔE^* 值(Y_1)的直接通径系数。间接通径系数 P_{ij} 由直接通径系数计算得到,见通径系数分析表11(计算步骤同2.3.1)。

表11 通径分析表

Table 11 Table of path analysis

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	R_1
X_1	-0.510 1*	0.232 7	-0.138 1	-0.075 1	-0.466 4	-0.957
X_2	0.484 1	-0.245 2*	0.137 9	0.070 9	0.449 3	0.897
X_3	-0.494 3	0.237 4	-0.142 5*	-0.073 9	-0.478 6	-0.952
X_4	-0.504 0	0.228 6	-0.138 5	-0.076 0*	-0.492 0	-0.982
X_5	-0.445 9	0.206 5	-0.127 8	-0.070 1	-0.533 6*	-0.974

表 11 表明,在被研究的 5 个因子中,37 ℃贮藏条件下类胡萝卜素(X_5)对浓缩橙汁的色差 ΔE^* 值影响最大, $P_5=-0.533\ 6$;抗坏血酸(X_1)次之, $P_1=-0.510\ 1$;作用最小为氨基酸态氮(X_4), $P_4=-0.076\ 0$ 。从表 11 中还可以看出,类胡萝卜素和抗坏血酸与其他因素的复合影响对色差 ΔE^* 值的影响也十分突出;氨基酸态氮与其他因素的复合影响很弱。

计算得各决定系数为(同 2.3.1):

$$d_1=0.260\ 2, d_2=0.060\ 1, d_3=0.020\ 3, d_4=0.005\ 8, d_5=0.284\ 7$$

$$d_{12}=-0.237\ 4, d_{13}=0.140\ 9, d_{14}=0.076\ 6, d_{15}=0.475\ 8$$

$$d_{23}=-0.067\ 7, d_{24}=-0.034\ 8, d_{25}=-0.220\ 4$$

$$d_{34}=0.021\ 1, d_{35}=0.136\ 4$$

$$d_{45}=0.074\ 8$$

$$\sum d=0.996\ 7$$

由决定系数可以看出 37 ℃贮藏条件下浓缩橙汁各致褐变因子对色差 ΔE^* 的决定系数中,排名前 3 位的是: $d_{15}>d_5>d_1$ 。类胡萝卜素和抗坏血酸的复合影响对色差 ΔE^* 值的影响最大;类胡萝卜素的影响次之;抗坏血酸的影响处在第 3 位;其余依此类推。

此次实验中, $\sum d=0.996\ 7$, $Pe=0.057\ 4$ 说明已考虑了影响橙汁色差 ΔE^* 值变化的主要因素。

2.5.2 通径分析—各因素对褐变指数 A_{420} 值的影响
 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 Y_2 变量间的相关系数见表 12。

表 12 各因子间的相关系数

Table 12 Correlation coefficient of all factors

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_2
X_1	1	-0.949	0.969	0.988	0.874	-0.91
X_2	-0.949	1	-0.968	-0.932	-0.842	0.833
X_3	0.969	-0.968	1	0.972	0.897	-0.884
X_4	0.988	-0.932	0.972	1	0.922	-0.944
X_5	0.874	-0.842	0.897	0.922	1	-0.979

通径系数根据相关系数计算,得各因子对褐变指数 Y_2 的直接通径系数 $P_1=-0.819\ 7$, $P_2=-0.124\ 8$, $P_3=0.609\ 6$, $P_4=-0.008\ 5$, $P_5=-0.905$ 即为抗坏血酸、还原糖、总酚、氨基酸态氮、类胡萝卜素对褐变指数 $A_{420}(Y_2)$ 的直接通径系数。间接通径系数 P_{ij} 由直接通径系数计算得到,见通径系数分析表 13 (同 2.3.1)。

表 13 通径分析表

Table 13 Table of path analysis

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	R_2
X_1	-0.819 7*	0.118 5	0.590 7	-0.008 4	-0.791 0	-0.910
X_2	0.777 9	-0.124 8*	-0.590 0	0.007 9	0.762 0	0.833
X_3	-0.794 3	0.120 8	0.609 6*	-0.008 3	-0.811 8	-0.884
X_4	-0.809 9	0.116 3	0.592 5	-0.008 5*	-0.834 4	-0.944
X_5	-0.716 4	0.105 1	0.546 8	-0.007 9	-0.905 0*	-0.979

表 13 表明,在被研究的 5 个因子中,37 ℃贮藏条件下类胡萝卜素(X_5)对浓缩橙汁的褐变指数影响最大, $P_5=-0.905\ 0$;抗坏血酸(X_2)次之, $P_1=-0.819\ 7$;作用最小为氨基酸态氮(X_4), $P_4=-0.008\ 5$ 。从表 13 中还可以看出,类胡萝卜素和抗坏血酸与其他因素的复合影响对褐变指数的影响也十分突出;还原糖与其他因素的复合影响很弱。

计算得各决定系数为(同 2.3.1):

$$d_1=0.671\ 9, d_2=0.015\ 6, d_3=0.371\ 6, d_4=0.000\ 1, d_5=0.819$$

$$d_{12}=-0.194\ 2, d_{13}=-0.968\ 3, d_{14}=0.013\ 8, d_{15}=1.297$$

$$d_{23}=0.147\ 3, d_{24}=-0.002, d_{25}=-0.190\ 2$$

$$d_{34}=-0.010\ 1, d_{35}=-0.989\ 7$$

$$d_{45}=0.014\ 2$$

$$\sum d=0.995\ 7$$

由决定系数可以看出 37 ℃贮藏条件下浓缩橙汁各致褐变因子对褐变指数的决定系数中,排名前 3 位的是: $d_{15}>d_{35}>d_{13}$ 。抗坏血酸和类胡萝卜素的复合影响对褐变指数的影响最大;类胡萝卜素和总酚的复合影响次之;抗坏血酸和总酚的复合影响处在第 3 位;其余依此类推。

此次实验中, $\sum d=0.995\ 7$, $Pe=0.065\ 6$ 说明已考虑了影响橙汁褐变指数变化的主要因素。

3 结 语

由上述分析得出结论,浓缩橙汁非酶褐变主要与抗坏血酸的、类胡萝卜素、酚类物质这 3 类物质的变化有关;此外褐变与糖类物质变化的相关性不是非常显著,说明美拉德反应可能对褐变的影响不大。

由不同温度下对浓缩橙汁的通径分析可知,在不同的温度条件下,引起浓缩橙汁非酶褐变的决定因素不同。对影响色差 ΔE^* 值(Y_1)的因素进行通径

分析,在 4 ℃条件下,氨基酸态氮和类胡萝卜素的复合影响对色差值的影响最大;类胡萝卜素的影响次之;总酚和类胡萝卜素的复合影响处在第 3 位;在 25 ℃条件下,类胡萝卜素对色差 ΔE^* 值的影响最大;类胡萝卜素和抗坏血酸的复合影响次之;类胡萝卜素和氨基酸态氮的复合影响处在第 3 位;在 37 ℃条件下,类胡萝卜素和抗坏血酸的复合影响对色差 ΔE^* 值的影响最大;类胡萝卜素的影响次之;抗坏血酸的影响处在第 3 位。对影响褐变指数 A_{420} (Y_2) 的因素进行通径分析,在 4 ℃条件下,总酚和类胡萝卜素的复合影响对褐变指数的影响最大;总酚

和氨基酸态氮的复合影响次之;总酚的影响处在第 3 位;在 25 ℃条件下,总酚和氨基酸态氮的复合影响对褐变指数的影响最大;抗坏血酸和氨基酸态氮的复合影响次之;氨基酸态氮的影响处在第 3 位;在 37 ℃条件下,抗坏血酸和类胡萝卜素的复合影响对褐变指数的作用最大;类胡萝卜素和总酚的复合影响次之;抗坏血酸和总酚的复合影响处在第 3 位。总体来说,类胡萝卜素的降解,抗坏血酸的氧化降解,酚类物质的氧化缩合是导致浓缩橙汁发生褐变的 3 大首要原因,而美拉德反应对浓缩橙汁褐变反应的影响较小。

参考文献:

- [1] YU Yabai, XIE Honggen, CHEN Yuan. The present situation about the orange juice processing industry and development countermeasures of our country[J]. **China Fruit News**, 2006, 23(12): 4-5. (in Chinese)
- [2] 王小明. 橙汁加工过程的酶解工艺优化与褐变控制研究[D]. 广东海洋大学, 2013.
- [3] WANG Hua, LIU Junxuan, MA Yaqin. Physicochemical parameters and color change of Hamlin orange juice during storage[J]. **Food Science**, 2012, 33(24): 321-324. (in Chinese)
- [4] SHU Nianhui. Research on browning and controlling of fruit juice[J]. **Food and Fermentation Technology**, 2011, 47(5): 59-61. (in Chinese)
- [5] LI Peiyan, QIU Nongxue. Comparison study on browning of Fuji Qinguan and Granny Smith in apple juice processing[J]. **Journal of Shaanxi Normal University: Nat Sci Ed**, 2008, 36(6): 96-100. (in Chinese)
- [6] XU Huiyan. Research progress on non-enzymatic browning of fruit juice and influence factors[J]. **Academic Periodical of Farm Products Processing**, 2011, (4): 103-106. (in Chinese)
- [7] MA Xia, GUAN Fengmei, GUO Limei, et al. Factors affecting nonenzymatic browning of juice and controlling[J]. **Shandong Food Fermentation**, 2002, (2): 14-17. (in Chinese)
- [8] SUN Jiahe, ZHAO Jianwei, CHEN Kui, et al. Relation between browning of white soy sauce and Maillard reaction during storage[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015, 34(10): 1062-1068. (in Chinese)
- [9] 迟森. 橙汁在加工贮藏过程中色泽稳定性研究[D]. 西南大学, 2010.
- [10] CHOI M H, LEE H S. Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage[J]. **Food Research International**, 2002, 25(8): 753-755.
- [11] JING Yanhui, XING Liuwei. Path analysis and its applications[J]. **Statistical Education**, 2006, (2): 24-26. (in Chinese)
- [12] ZHANG Huai, SUN Junyan. New exploration on path analysis[J]. **Journal of Hebei Agricultural Sciences**, 2008, 12(4): 1-3. (in Chinese)
- [13] HAN Yan, WU Houjiu, DOU Huating. Color changes of fresh orange juice during refrigerated storage[J]. **Food Science**, 2010, 31(2): 269-272. (in Chinese)
- [14] VINA S Z, CHAVES A R. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage[J]. **Food Chemistry**, 2006, 94(1): 68-74.
- [15] 侯曼玲. 食品分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 20-60.
- [16] XU Huiyan, SUN Xiaodong, ZHANG Peijun, et al. Determination of total polyphenols of Chinese jujube juice by folin-ciocalleu method[J]. **Food Research and Development**, 2009, 30(3): 126-128. (in Chinese)
- [17] 国家质量监督检验检疫总局, GB/T 12143-2008, 饮料通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [18] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 第 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 204-205.

- [19] MARTIN D A B, RICO D, BARAT J M, et al. Orange juices enriched with chitosan: optimisation for extending the shelf-life[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2009, 10(4): 590-600.
- [20] WANG Hanping, WANG Haodong. Research on non-enzymatic browning of jujube juice during storage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008, 29(10): 237-239. (in Chinese)

科 技 信 息

欧盟授权将隔山消等草药提取物作为新食品成分

2018年3月22日,欧盟委员会发布(EU)2017/469号法规,根据欧洲议会和理事会(EC)第2015/2283号法规,授权将欧洲议会和理事会的欧盟法规(EU)2015/2283中的三种草药提取物作为新食品投放市场,三种草药分别是隔山消(*Cynanchum wilfordii* Hemsley)、糙苏(*Phlomis umbrosa* Turcz)和当归(*Angelica gigas* Nakai)。

同时修改欧盟委员会实施细则(EU)2017/2470,内容包括:一是按法规(EU)2015/2283第8条的规定列入欧盟授权新食品清单;二是对规定了可以使用新食品的条件和标签要求;三是本条规定的授权不得与条例2002/46/EC相关规定冲突。

本法规在欧盟官方公报公布后20天生效。

[信息来源]厦门WTO工作站. 欧盟授权将隔山消等草药提取物作为新食品成分 [EB/OL]. (2018-3-27). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/show.asp?id=56834>